

モルモットリンパ節の線維形成細胞の構造と反応

—光学顕微鏡的、電子顕微鏡的及び組織化学的研究—

金沢大学医学部病理学第一講座 (主任: 梶川欽一郎)

増 田 信 二

(昭和57年1月16日受付)

モルモットリンパ節について、正常状態及び Freund 完全アジュバント注射によって作られた肉芽腫における線維形成細胞の超微構造及び分布を光顕的、電顕的並びに酵素組織化学的に研究した。正常リンパ節においては、線維形成細胞は通常、髄索のリンパ組織実質の外表面に沿ってみとめられ、細長い細胞突起を伸ばし、組織学的に細胞線維と同定されるリンパ節間質を囲んでいる。アジュバント肉芽腫においては、増殖する線維形成細胞の微細構造は活動性の線維芽細胞と類似するが、近くの間葉細胞と接着し、ビタミン A を貯蔵する傾向があり、細胞周囲に細胞線維を産生する。アジュバント肉芽腫の線維化の進展とともに、肉芽腫に巻き込まれた梁柱や被膜から増殖した線維芽細胞が肉芽腫内で膠原線維を産生する。同時に、線維形成細胞は肉芽腫へ侵入増殖して細胞線維を形成する。従って、肉芽腫の線維化は、線維性組織から侵入する線維芽細胞によって産生される膠原線維と、髄索の線維形成細胞によって形成される細胞線維に基づくものと考えられた。線維形成細胞と他のリンパ節間質細胞との鑑別について考察を加えた。

Key words Fibroblastic reticulum cell, Vitamin A-storing cell, Fibrosis of lymph node, Fibrous long spacing fiber.

リンパ節の細胞は網内系の構成細胞の一つとされ、著明な貪食能と共に、細胞線維を形成する能力を持つ細胞と考えられた¹⁾。しかし、細胞線維と呼ばれた細胞が形態学的にも機能的にも単一の細胞種か否かについて疑問がもたれ、網内系の概念そのものに対して様々な異論が生じた。van Furth ら²⁾はリンパ節の細胞線維と呼ばれる細胞は、他の組織におけると同様、骨髄で産生される単球に由来する大食細胞に他ならないことを主張し、網内系に代る単核食細胞系 (mononuclear phagocyte system) の概念を提唱した。

一方、リンパ節の間質には貪食能を持たない細胞が存在することが多くの研究者によって指摘された³⁾⁻⁶⁾。Imai⁷⁾は電顕的所見に基づいて細胞線維を3型に分類した。I型細胞はリンパ節に網状に分布し、胞体が線維を包き込み、II型及びIII型細胞は貪食能を持つ細胞で後者は特に多くの貪食物を有し、線維

との接触はないとされた。I型細胞は Han⁸⁾の reticular cells associated with fibers や Movat ら⁹⁾の reticular cells に相当し、II及びIII型細胞は大食細胞に属し、I型細胞とは別種の細胞と考えられた。Fujita ら¹⁰⁾は走査電顕的観察から、細胞線維は大食細胞と異なる形態をもち、長い突起を伸ばし線維を包み、リンパ節内で細胞性網工を形成することを報告した。さらに、リンパ節における貪食能のない細胞線維として芽中心における樹状細胞 (dendritic reticulum cell)⁹⁾や傍皮質における嵌合細胞 (interdigitating reticulum cell)¹⁰⁾の存在が明らかにされ、髄索の細胞線維と区別された。

これらの知見に基づいて Müller-Hermelink ら³⁾、Veldman¹⁰⁾はリンパ節間質を構成する細胞を1)芽中心の樹状細胞、2)傍皮質の嵌合細胞、3)大食細胞 (histiocytic reticulum cell)、及び4)線維形成細胞

Ultrastructure and Reaction of the Fibroblastic Reticulum Cell of the Guinea-pig Lymph Node: A Histological, Electron Microscopical and Histochemical Study. Shinji Masuda, Department of Pathology (I), (Director: Prof. K. Kajikawa), School of Medicine, Kanazawa University.

細胞 (fibroblastic reticulum cell) の4種類に分類した。しかしこの分類についても異論があり、嵌合細網細胞は皮膚の Langerhans 細胞と形態学的、免疫学的、組織化学的に類似性をもち、大食細胞同様に単核食細胞系に属するという意見がある⁴⁾¹¹⁾。

大食細胞については最も多くの研究があり、又樹状細網細胞や嵌合細網細胞についても微細構造や機能が次第に明らかにされている。しかし線維形成細網細胞の形態学的特徴については知見に乏しく、又この細胞はリンパ節の細網線維形成に密接な関係を有するものと思われているが、リンパ節線維症の発生に対してどのような役割を演ずるのかについてはほとんど知られていない。悪性リンパ腫²⁾¹²⁾、Hodgkin 病¹³⁾、結核症やサルコイドーシス¹⁴⁾などの肉芽腫性病変に線維の増加がみられることはよく知られている。Seemayer ら¹³⁾は Hodgkin 病において筋線維芽細胞が増殖すること、Dvorak ら¹⁵⁾はアジュバント肉芽腫において被膜に増殖した線維芽細胞が肉芽腫内へ侵入すること、さらに Imai ら¹²⁾は肉芽腫性リンパ節炎において I 型細網細胞が増殖することを報告しているが、これら線維の増加を伴うリンパ節病変において、線維形成細網細胞がいかに関与するかについては十分に解明されていない。

著者はモルモットリンパ節における線維形成細網細胞の細胞学的特徴とアジュバント肉芽腫における反応、特にその線維化の発生にどのような役割を果すかについて電顕的研究を行った。

材料及び方法

実験動物として Hartley 系モルモット雌 (体重 350~450 g) を使用し、両側膝窩リンパ節を手術的に摘出し、研究材料とした。

電顕試料の作製：細切した組織を 2.5 % グルタルアルデヒド (0.1 M カコシル酸ソーダ緩衝液 pH 7.4) で 4°C、60 分間固定を行った。次いでエタノール系で脱水、Epok 812 で包埋した。一部の組織は Luft 変法により、ルテニウムレッド (以下 RR と略す) 染色を施した。超薄切片はダイヤモンドナイフを用い、LKB ウルトラム 8800 型で作製し、酢酸ウラニール・硝酸鉛の二重染色、又はタンニン酸染色¹⁶⁾を行った。電顕材料は日立 H-500 型で直接倍率 1,500~10,000 で観察した。

光顕の観察：組織を 10 % 中性緩衝ホルマリンで固定し、パラフィン切片とし、H-E、PAS、鍍銀 (Gomori 法) 染色を施した。

酵素組織化学：

1) 電顕的酵素組織化学：2.5 % グルタルアルデヒド (0.1 M カコシル酸ソーダ緩衝液 pH 7.4) で 4°C、60

分間固定後、vibratome で 50~100 μ に薄切し、アルカリフォスファターゼ (Mayahara 法)¹⁷⁾、adenosine triphosphatase (Wachstein & Meisel 法)¹⁸⁾を施した。

2) 光顕的酵素組織化学：10 % ホルマリン・カルシウム (pH 7.2) で 1 晩固定し、0.88 M ガムシロップで 1 晩洗浄後凍結切片を作製し、酸性フォスファターゼ (Barka & Anderson 法)¹⁹⁾、アルカリフォスファターゼ (Burstone 法)²⁰⁾、non-specific esterase (Yam 法)²¹⁾及び、adenosine triphosphatase (Wachstein & Meisel 法)¹⁸⁾を施した。

1. 食食実験

Horseradish peroxidase (6~8 mg/1 ml, Sigma 社、以下 HRP と略す)、又は 20 % ペリカンインクを足趾に 0.05 ml 注射し、30 分、1、2 時間、1、2 日、1、2 週に組織を採取した。

2. ビタミン A 投与

ビタミン A (「チョコラ A」、エーザイ、以下 VA と略す) を 1 日 5~10 万国単位 (1.8~2 万国単位/体重 100 g) を 7 日間連続筋注し、最終注射の翌日リンパ節を採取した。対照群として、VA の界面活性剤 4 % HCO60、1~2 ml を同じく筋注した。組織はホルマリン固定後、凍結切片を作製し蛍光顕微鏡 (Zeiss 社) で観察した。

3. Freund アジュバント肉芽腫

実験動物を 2 群に分け、一群は Freund 完全アジュバント (H 37 Ra, Difco 社) 0.05 ml を足趾皮下に注射し、1、3、5 日、1~6、8、10、12 週目に膝窩リンパ節を採取した。他の群はアジュバント注射後、1、8、12 週目から VA を 7 日間連続筋注 (1 日 5~10 万国単位) し、最終注射の翌日リンパ節を採取した。

成 績

I. リンパ節間質

1. 光顕所見

リンパ節間質は間質細胞と細網線維で構成される。後述のように間質細胞として電顕的には皮質 (芽中心) には樹状細網細胞と大食細胞、傍皮質には嵌合細網細胞、線維形成細網細胞、及び大食細胞、髄索には線維形成細網細胞と大食細胞が区別されるが、H-E 染色標本では、これらの間質細胞の形態や相互関係を観察することはかなり困難である。電顕用 1 m μ 切片 (トルイジン青染色) では、嵌合細網細胞や、線維形成細網細胞はよく識別される。

好銀性を示す細網線維は、髄索、傍皮質に多く分布し、リンパ小節では極めて少ない。

酵素組織化学的所見：芽中心の樹状細網細胞には弱い non-specific esterase 活性が陽性である。芽中心、

傍皮質、髄索、リンパ洞に分布する大食細胞には、non-specific esterase 活性や酸性フォスファターゼ活性が共に強陽性である。傍皮質、髄索には、adenosine triphosphatase 活性陽性細胞として、銕合細胞、リンパ球、及び形質細胞が認められる。小血管内皮にはアルカリフォスファターゼ活性が陽性で、周囲のリンパ球にも活性がみられる。

2. 電顕的所見

1) 間質細胞

i) 線維形成細胞

線維形成細胞は長い細胞突起を伸ばした細胞で、リンパ球、大食細胞及び少数の白血球を含む髄索の表面に沿って分布し、髄索の細胞と接着している(図1)。髄索の間は光顕的に好銀線維(細網線維)として見られる狭い線維性細胞間物質で占められ、血管周囲の結合組織間質に連続している。毛細血管周囲には周細胞、小血管周囲には外膜の線維芽細胞が配列しているが、髄索間の細胞間質には遊離状の細胞はほとんど認められない。すなわち、線維形成細胞はリンパ節の固有間質(光顕的細網線維)と細胞性の髄索との境界を作っていると見ることができる。

線維形成細胞の核は凹凸を示す楕円形を呈し、クロマチンはほぼ均等に分布する。狭い原形質には一般に小器管の発育は乏しく、少数の遊離リボゾーム、吻合の少ない拡張した粗面小胞体、小胞及び糸粒体が散在する。核周囲に空胞や小胞から構成されるゴルジ装置が同定される。リソソームや脂肪滴はほとんど認められない。原形質周辺に時々マイクロフィラメントの集束がみられる。前述のように、線維形成細胞は髄索の細胞と接着しているが、特殊な接着装置は認められない。細胞間質に面する側には基底膜は存在しない。

HRP やペリカンインクに対してほとんど貪食能は認められない。

ii) 銕合細胞

銕合細胞は傍皮質、特に後毛細血管細静脈周囲に集する淡明な大型細胞で、指状突起で互いに複雑な銕合を示す。核は深い陥凹によって葉状となり、核中央に1~2個の核小体がみられる。粗面小胞体やゴルジ装置の発育は乏しく滑面小胞体が比較的多い。高電子密度のリソソーム様小体が散在しているが、明らかな貪食像はない。Birbeck 顆粒は認められない。

iii) 樹状細胞

樹状細胞は芽中心に局在し、デスモゾームによって接合する樹状突起によって細胞性の網工を形成する。細胞突起間にはしばしば高電子密度の無構造物質がみられる。核は楕円形で時々深い陥凹を示し、核小

体が認められる。小器管の発育は全般的に乏しく、少数の粗面小胞体やゴルジ装置の発育は貧弱である。遊離リボゾーム及び糸粒体が散在している。脂肪滴やリソソームはなく、貪食能も認められない。

iv) 大食細胞

大食細胞は髄索及びリンパ洞の中に認められる。陥凹のある核、偽足様突起、豊富な滑面小胞体及びリソソームによって特徴づけられる。刺激状態によってかなりよく発達した粗面小胞体とゴルジ装置が認められる。他の間質細胞と違って HRP やペリカンインクに対して著明な貪食能を示す。

酵素組織化学的には、リンパ球、形質細胞と銕合細胞の形質膜に adenosine triphosphatase 活性が証明されるが、樹状細胞、大食細胞及び線維形成細胞では陰性である。

2) 細胞間物質

光顕的に細網線維として認められる部分は電顕的に単一ではなく、等質性物質に囲まれた比較的細い膠原線維(直径平均約 46 nm)と少数の microfibril から成る(図1)。まれに弾力線維が含まれる。弾力線維の周囲には microfibril が多くみられる。RR 染色では、細い膠原線維の表面に陽性物質が付着している。

3) 被膜及び梁柱

被膜及び梁柱は血管を含む線維性結合組織で構成され、緻密に配列した太い膠原線維(直径平均約 66 nm)の間に小器管の乏しい細長い線維芽細胞が散在する。膠原線維束の間に少数の microfibril と弾力線維が認められる。

II. VA 投与

蛍光顕微鏡所見：対照群では髄索、傍皮質のみにごく少数の VA 特有の緑色蛍光物質を含む細胞が認められた。VA 投与により髄索、傍皮質における蛍光物質を含む細胞の増加と蛍光の増強がみられた。皮質のリンパ小節及び被膜、梁柱には蛍光は観察されなかった。VA の蛍光は 10~15 秒で消褪した。髄洞の大食細胞には黄色の蛍光物質が認められたが、短時間で消褪することはなかった。

電顕的所見：VA 注射によってリンパ節間質に水腫がみられ、大食細胞や少数の白血球の浸潤が伴われる。線維形成細胞は髄索細胞との接着が疎となり、所々細胞間質内に遊離状に存在する。しかし髄索から離れた線維形成細胞も間質に浸潤した大食細胞やリンパ球の表面に接着することがまれでない。線維形成細胞の粗面小胞体は増加し、しばしば拡張を示す。最も注目すべき所見は線維形成細胞の原形質に数個の脂肪小滴が出現することである(図2)。大食細胞には貪食空胞の増加がみられるが、脂肪滴は認められ

ない。リンパ洞内皮細胞には時々多数の空胞が認められることがあるが、ここにも脂肪滴は同定されない。血管周囲の線維芽細胞及び被膜や梁柱に存在する線維芽細胞にも脂肪滴の出現は認められなかった。

以上のリンパ節間質細胞の分布と特徴は表1に示す通りである。

III. アジュバント肉芽腫

Freund 完全アジュバント注射によりリンパ節の重量は急激に増加し、2週目に約20倍に達し、その後徐々に減少した。

1. 初期変化 (1~5日)

光顕的所見：被膜下リンパ洞は拡張し、その中に多数のアジュバント油滴と大食細胞や好中球の浸潤が認められる。傍皮質はリンパ球の増加のため拡大し、芽中心をもつ多数の二次小節が形成される。

5日目には輸入リンパ管開口部に接する周辺洞や髄索、傍皮質に少数の大食細胞の集合がみられる。被膜は肥厚し、線維芽細胞が増殖する。

電顕的所見：リンパ洞は拡張し、内皮細胞には時々核分裂がみられる。間質には水腫と大食細胞、リンパ球及び少数の好中球の浸潤が認められる。線維形成細胞はしばしば髄索の表面から水腫状に拡大した間質に遊離する。これらの線維形成細胞は著明な核小体を含む核を有し、原形質には管状の粗面小胞体が増加し、ゴルジ装置の発育も良好となる。時々中心小体や繊毛が認められる (図3)。

被膜には線維芽細胞の増殖と膠原線維の増加が見られる。線維芽細胞には粗面小胞体とゴルジ装置の発育が目立つ。原形質周辺にはマイクロフィラメントの集

束が認められる。

2. 類上皮細胞肉芽腫形成期 (1~5週)

光顕的所見：アジュバントの油滴を中心に大食細胞が集簇し、類上皮細胞肉芽腫へと進展する。肉芽腫は被膜下及び梁柱周囲に多く形成されるが、髄索や傍皮質にも散在性に小肉芽腫が認められる。被膜下、梁柱周囲に形成された肉芽腫は互いに融合し、さらに髄索や傍皮質の小肉芽腫とも融合しリンパ節の大部分が肉芽腫で占められるに至る。肉芽腫は、類上皮細胞から構成されるが、その他大食細胞、単球、リンパ球が混在する。巨細胞は少ない。

肉芽腫の形成初期には周辺は好銀線維で包まれ、肉芽腫内に線維の形成はみられないが、肉芽腫の発育とともにその周辺から好銀線維が侵入し、肉芽腫は線維に包まれた小さな細胞集団に分画される。特に被膜と梁柱からは早期から好銀線維と共に膠原線維が肉芽腫内に侵入する。

VAを投与した実験群では、髄索の一部に少数の蛍光を発する細胞が認められたが、肉芽腫内、被膜、又は梁柱には蛍光が認められなかった。対照群では蛍光は認められない。

電顕的所見：アジュバント油滴を中心に大食細胞の活発な増殖が認められる。時々大食細胞の核分裂像に遭遇する。肉芽腫を構成する類上皮細胞は細胞突起をもって互いに嵌合する大型細胞として同定される。滑面小胞体とリソソームが目立ち、粗面小胞体やゴルジ装置の発育も良好で糸粒体の数が多い。

リンパ節の実質は大食細胞や好中球の浸潤のため固有の構築を失い、線維形成細胞は浸潤した大食細胞

Table 1. Distribution and histochemical properties of stromal cells and fibroblast in the lymph node

		Localization			Phago-cytosis		Enzyme			
		Germinal center	Para-cortex	Medullary cord		VA	AcPase	AlPase	Esterase	ATPase
Stromal cells	Dendritic reticulum cell	+	-	-	-	-	-	-	+	-
	Interdigitating reticulum cell	-	+	-	-	-	-	-	-	+
	Fibroblastic reticulum cell	-	+	+	-	+	-	-	-	-
	Macrophage	+	+	+	+	-	+	-	+	-
Capsule & trabecula	Fibroblast	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- : absent

+: present

- : negative,

+: positive,

+: strongly positive

VA : vitamin A storing activity.

Esterase : non-specific esterase.

AcPase : acid phosphatase. AlPase : alkaline phosphatase

ATPase : adenosine triphosphatase.

胞やリンパ球に沿って髄索内に、又固有の間質内に増殖する。増殖した線維形成細胞の核には著明な核小体が認められ、原形質には粗面小胞体やリボソームが増加する(図4)。粗面小胞体はしばしば拡張し、その中に絮状物質を容れる。ゴルジ装置は層板と小胞が豊富で中心小体や纖毛が認められることがある。時々リソソーム様小体や少数の脂肪滴が含まれる。間質に増殖した線維形成細胞はしばしば大食細胞やリンパ球と接着することが注目される。細胞間には細い膠原線維, microfibril, 及び無定形物質で占められる。

小血管周囲には線維芽細胞の増殖が観察される。線維芽細胞には層状に配列した多数の粗面小胞体とよく発達したゴルジ装置を有し、血管を取巻く様に増殖する。細胞間には細い膠原線維が認められる。毛細血管基底膜はしばしば層状の肥厚を示す。

被膜及び梁柱にも線維芽細胞の活発な増殖が認められる(図5)。細胞間では太い膠原線維(直径平均約66 nm)で緻密な線維束が形成される。線維芽細胞は被膜又は梁柱からそれに隣接する肉芽腫へ連続性に侵入する。

VAを注射した実験群では線維形成細胞に脂肪滴の増加が認められる。脂肪滴は一般に原形質周辺に多く出現し、粗面小胞体の間に介在する(図6)。脂肪滴は他の遊離細胞と接着する線維形成細胞に出現しやすい傾向がある。被膜、梁柱又は血管周囲に増殖する線維芽細胞には脂肪滴はほとんど認められなかった。

3. 線維形成期(6週～12週)

光顕的所見：肉芽腫の内部および周辺部に線維形成が進行し、肉芽腫は萎縮する。前の時期に引続いて被膜、梁柱及び髄索側から増殖する線維性組織によって肉芽腫は分断される(図7)。被膜や梁柱から連続性に増加する膠原線維は厚い線維性組織を作り、髄索側から増加する好銀線維も次第に褐染する線維に変る。髄索に残された小血管やリンパ洞周囲にも膠原線維の増加が認められる。肉芽腫内及び周辺に増加した線維性組織に処々鍍銀染色で褐染、PAS陽性のヒアルン様物質の沈着が認められる(図8)。

VAを投与した実験群では、類上皮細胞肉芽腫形成期とほぼ同様の所見で、髄索に蛍光を発する細胞が認められた。

電顕的所見：光顕的所見に一致して、肉芽腫を構成する類上皮細胞や大食細胞の間に、多数の線維芽細胞と線維形成細胞が認められる。線維芽細胞は互いに平行に並び、延長した紡錘型の原形質に发育した粗面小胞体とゴルジ装置が認められる。原形質周辺にマイクロフィラメントの集束が認められる。細胞間には

太い膠原線維(直径平均約66 nm)の線維束で満される(図9)。これに対して、線維形成細胞はしばしば大食細胞や類上皮細胞に接着して認められ、原形質には多数の粗面小胞体が含まれるが、小胞腔はしばしば拡張し、原形質が囊状に拡張した粗面小胞体で占められることがある(図10)。まれに少数の脂肪滴が認められる。細胞間には膠原線維束で占められる所もあるが、細い膠原線維(直径平均約46 nm), microfibril と共に多数の線維性長周期(fibrous long spacing, 以下 FLS と略す)線維から構成される部分が少なくない。RR染色では、FLS線維の横紋に一致して強いRR親和性がみられる。細い膠原線維の表面にはRR陽性物質が付着している。線維の間には所々、粒子とフィラメントからなるRR陽性物質が認められる(図11)。このような細胞間物質は光顕的にPAS陽性のヒアルン様に見える部分に一致するものと考えられる。

以上のアジュバント肉芽腫の線維化の経時的变化は図12の如くである。

考 察

1. 線維形成細胞の特徴

従来、細胞網細胞としてまとめられていたリンパ節の間質細胞の再検討の結果、リンパ節の間質細胞として線維形成能がある細胞が存在することは多くの研究者によって指適され、fibroblastic reticulum cell³⁾, reticular cells associated with fibers⁵⁾, I型細胞網細胞⁷⁾, reticular cells⁹⁾ など様々な名称で呼ばれている。

本研究においても正常リンパ節では線維形成細胞網細胞はリンパ節の細胞間質(光顕的に定義される細胞網線維)⁵⁾²²⁾を常に包囲するように配列し、アジュバント肉芽腫では増殖したこの細胞の周囲に線維の増加が認められたことは、線維形成細胞網細胞がリンパ節の細胞間

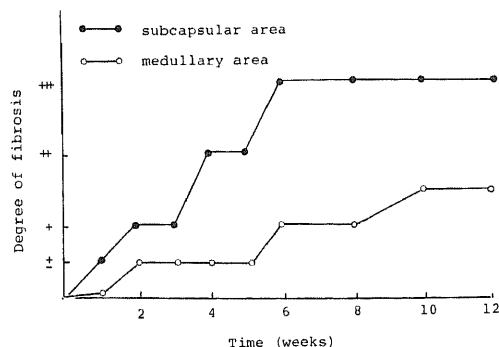


Fig. 12. Degree of fibrosis in granuloma induced by Freund's complete adjuvant.

±: minimum, +: mild, ++: moderate, +++: severe

物質の形成に関与することを強く示唆している。

線維形成細網細胞は正常リンパ節では形態学的特徴の比較的乏しい細胞であるが、偽足様突起、滑面小胞体、及びリソソームの豊富な存在によって特徴づけられる大食細胞とは容易に区別することができる。又、大食細胞と違って線維形成細網細胞は注射されたペルオキシダーゼやペリカンインクに対する貪食能力はほとんど認められず、non-specific esterase 活性も陰性である。アジュバント注射によって大食細胞は速やかに増殖し肉芽腫の主要な構成成分となるのに対し線維形成細網細胞は肉芽腫周辺から大食細胞や類上皮細胞の間に増殖するが、これらの細胞と線維形成細網細胞との間に形態学的移行は認められなかった。以上の成績から線維形成細網細胞は大食細胞とは別個の細胞種であると考えられる。

その他のリンパ節の間質細胞として樹状細胞と簇合細胞がある。樹状細胞は芽中心に局在し、細胞突起はデスモゾームで互いに接着し、non-specific esterase 活性が陽性で、狭い細胞間には無定形物質が存在する点で線維形成細網細胞と区別される。しかし Müller - Hermelink ら²³⁾は樹状細胞は発生学的に線維形成細網細胞と同一の間葉細胞から発生する可能性を指摘し、Heusermann ら²⁴⁾は線維形成細網細胞が直接樹状細胞に転化するものと推定している。

簇合細胞は傍皮質、特に後毛細血管細静脈の周囲に集在する。この分布のほか、簇合細胞は特徴的な細胞相互の簇合と滑面小胞体及び高電子密度のリソソーム様小体の存在によって線維形成細網細胞との鑑別は容易である。又酵素組織化学的に adenosine triphosphatase 活性が陽性である点でも線維形成細網細胞と区別される。この細胞の機能は十分に解明されていないが、Friess²⁵⁾は van Furth の単核食細胞系に所属する細胞とし、T リンパ球の定着と分化に関係する細胞と推定している。

線維形成細網細胞と通常の線維芽細胞との関係は重要な問題である。正常リンパ節における線維形成細網細胞は静止期の線維芽細胞（線維細胞）と類似した構造を持ち、アジュバント肉芽腫において増殖する場合は、粗面小胞体とゴルジ装置の発育が活発となり、線維芽細胞と一層類似した形態を示す。Müller - Hermelink ら²³⁾は原形質に含まれるアクチンフィラメントに注目し、線維形成細網細胞は筋線維芽細胞に属する細胞とした。本研究においても線維形成細網細胞に原形質フィラメントが認められたが、その量は様々でこのフィラメントの存在がすべての線維形成細網細胞の特徴とは考え難い。

線維形成細網細胞の線維芽細胞と異なる特徴として

いくつかの点が指摘される。第1は線維形成細網細胞は正常リンパ節では髄索を構成する細胞の表面に接着して配列し、リンパ節の狭い細胞間質を囲み、線維芽細胞のように細胞間質に遊離状に存在することはほとんどない。この性質は髄索の構築が炎症によって破壊されても保持され、髄索表面から離れた場合にも線維形成細網細胞はしばしば他の浸潤細胞と接着して認められる。

第2の特徴はVAに対する反応である。肝の伊東細胞がVAを貯蔵する脂肪滴を持っていることはよく知られているが²⁶⁾⁻²⁸⁾、最近同様なVA貯蔵細胞が肺、消化管、副腎、子宮、脾、リンパ節などの結合組織に見出されている²⁹⁾⁻³¹⁾。Yorifuji ら²⁹⁾によると、これらの細胞に共通する特徴として細胞突起を延ばした線維芽細胞様細胞で脂肪滴を含み、粗面小胞体と中等度に発育したゴルジ装置、原形質フィラメント、微細小管、遊離リボゾームを持ち、基底膜を欠くことがあげられている。このような形態学的特徴は線維形成細網細胞のそれと一致する。ただし、本研究においては、正常状態では脂肪滴はほとんど見出されなかった。しかしVA投与により光顕的に蛍光物質が証明され、電顕的に脂肪滴が認められた。この様なVA貯蔵能力はアジュバント肉芽腫において増殖する線維形成細網細胞にも認められたが、被膜や梁柱から増殖した線維芽細胞には認めることはできなかった。

第3の特徴は粗面小胞体の形態である。増殖した線維形成細網細胞には粗面小胞体の増加が起こるが、線維芽細胞に比べて小胞腔が拡張し囊胞化する傾向が強い。

第4の特徴は形成される細胞間物質である。線維芽細胞は太い膠原線維束を形成するが、線維形成細網細胞の間の膠原線維は細い。細胞間物質については次の項で再び述べる。

以上の特徴から、線維形成細網細胞は通常の線維芽細胞とは別種の機能を持つ結合組織細胞で、おそらく、他の臓器に見られるビタミンA貯蔵細胞と同類の細胞である可能性がある。しかし、線維形成細網細胞が線維芽細胞に転化するかどうかは明らかではない。肝硬変症³²⁾³³⁾で伊東細胞、肺線維症³⁴⁾で肺の胞隔細胞が増殖し線維芽細胞に転化することが示唆されている。本研究では次項で述べるように、アジュバント肉芽腫の線維化においては線維芽細胞と線維形成細網細胞との分布の相異から互に移行する可能性は少ないものと推定されたが、この問題は今後の検討が必要である。

II. リンパ節線維症と線維形成細網細胞

前述のように線維形成細網細胞がリンパ節における細胞間物質の形成細胞とすれば、リンパ節線維症の発生にどのような役割を演ずるのであろうか。

本研究においてアジュバント肉芽腫の線維化はアジュバント注射後 5~6 週目から次第に顕著となったが、図 12 に示すように、最も強い線維の増加は被膜及び梁柱から増殖する線維芽細胞に伴われて起り、線維形成細胞が増殖する髄索側では線維化の進行ははるかに遅延することが注目された。

被膜及び梁柱から連続的に肉芽腫内に増加する膠原線維は太く、緻密な線維束を形成する。これに対し、肉芽腫の周辺から増殖した線維形成細胞の間の膠原線維は細く、しばしば microfibril や無定形物質が伴われ、光顕的に好銀性の細網線維として認められる。細網線維は生化学的に III 型コラーゲンで構成されることが知られており³⁵⁾、又肝障害において伊東細胞は III 型コラーゲンを合成することが報告されている³²⁾。既述のように線維形成細胞は伊東細胞と同じく VA 貯蔵細胞の可能性があるので、増殖した細胞においても III 型コラーゲン合成能が発揮されるものと解釈される。

興味ある所見は、線維化の進展と共に増加する FLS 線維である。この線維は上述の線維形成細胞の間に沈着する細い膠原線維、microfibril 及び無定形物質と共に出現し、FLS 線維を含む細胞間質は光顕的に PAS 陽性を示すヒアルリン様物質に該当するものと考えられる。同様な FLS 線維はヒトで正常リンパ節にも少数存在し³⁶⁾、アジュバント肉芽腫³⁷⁾、Hodgkin 病³⁶⁾³⁸⁾、悪性リンパ腫³⁶⁾³⁹⁾においてしばしば多数の FLS 線維が出現することが報告されている。

FLS 線維の形成機序については、完全に解明されていないが、コラーゲナーゼの侵襲を受けた細網線維が FLS 線維に転化することが示唆されている⁴⁰⁾⁴¹⁾。本研究においては、肉芽腫の線維化にコラーゲナーゼ活性の上昇が伴われることは証明されていないが、上述のように、その分解過程で FLS 線維が形成される可能性は十分にありうると思われる。

いずれにしても、アジュバント肉芽腫の線維化は被膜と梁柱から連続性に沈着する膠原線維と髄索側から侵入する細網線維によって行われ、前者は線維芽細胞が、後者は線維形成細胞によって形成されるものと結論される。

結 論

モルモット膝窩リンパ節における線維形成細胞の形態学的特徴とアジュバント肉芽腫の線維化における関与を光顕的、電顕的及び酵素組織化学的に研究した。

正常リンパ節では線維形成細胞は髄索表面に接着する細長い細胞として認められ、リンパ節の狭い細胞間質を囲んでいる。線維形成細胞と大食細胞、

樹状細胞及び簇合細胞はその分布、超微構造及び酵素活性によって区別される。アジュバント肉芽腫において増殖する場合には線維芽細胞に類似した形態を示すが、線維形成細胞の特徴として、他の結合組織細胞と接着する傾向があり、ビタミン A の貯蔵能力が示唆され、しばしば著しく拡張した粗面小胞体を有し、「細網線維」を形成する点をあげることができる。

アジュバント肉芽腫の線維化は 2 つの過程で行なわれることが示唆された。1 つは被膜と梁柱からの線維芽細胞の増殖による膠原線維の沈着であり、他は髄索からの線維形成細胞の増殖による細網線維の形成である。前者の過程は早くかつ広範囲に起り、後者の過程はより弱く、しばしば FLS 線維の形成が伴われた。

謝 辞

御指導と御校閲を賜りました恩師梶川欽一郎教授に感謝の意を表します。また、研究遂行に際して御助言、御協力を戴きました教室員各位と電子顕微鏡室技術員の方々に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Akazaki, K.: Tumors of the reticuloendothelial system. *Acta Pathol. Jpn.*, **3**, 24 - 43 (1953).
- 2) van Furth, R., Cohn, Z. A., Hirsch, J. G., Humphrey, J. H., Spector, W. G. & Langevoort, H. L.: The mononuclear phagocyte system. A new classification of macrophages, monocytes, and their precursor cells. *Bull. WHO.*, **46**, 845 - 852 (1972).
- 3) Müller - Hermelink, H. K. & Lennert, K.: The cytologic, histologic, and functional bases of a modern classification of lymphomas. p 1 - 71, In K. Lennert (ed.), *Malignant lymphomas other than Hodgkin's disease*. Histology, cytology, ultrastructure, immunology, Springer - Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1978.
- 4) Hoefsmit, E. Ch. M.: Mononuclear phagocytes, reticulum cells, and dendritic cells in lymphoid tissues. p 129 - 146, In R. van Furth (ed.), *Mononuclear phagocytes in immunity, infection and pathology*, Blackwell, Oxford, 1975.
- 5) Han, S. S.: The ultrastructure of the mesenteric lymph node of the rat. *Am. J. Anat.*, **109**, 183 - 225 (1961).
- 6) Movat, H. Z. & Fernando, N. V. P.: The fine structure of lymphoid tissue. *Exp. Molec. Pathol.*, **3**, 546 - 568 (1964).
- 7) Imai, Y.: Electron microscopic study of

reticuloendothelial cells in the lymph node of rat. *Acta Pathol. Jpn.*, **17**, 275 - 286 (1967).

8) **Fujita, T., Miyoshi, M. & Murakami, T.**: Scanning electron microscope observation of the dog mesenteric lymph node. *Z. Zellforsch.*, **133**, 147 - 162 (1972).

9) **Nossal, G. J. V., Abbot, A., Mitchell, J. & Lummus, Z.**: Antigens in immunity. XV. Ultrastructural features of antigen capture in primary and secondary lymphoid follicles. *J. Exp. Med.*, **127**, 277 - 290 (1968).

10) **Veldman, J. E.**: Histophysiology and electron microscopy of the immune response. Thesis, N. V. Boekdrukkerij Dijkstra Niemeyer, Groningen, 1970. (文献 3) より引用)

11) **Groscurth, P.**: Non - lymphatic cells in the lymph node cortex of the mouse. I. Morphology and distribution of the interdigitating cells and dendritic reticular cells in the mesenteric node of the adult ICR mouse. *Path. Res. Pract.*, **169**, 212 - 234 (1980).

12) **Imai, Y., Kasagima, T., Terashima, K., Dobashi, M. & Matsuda, M.**: Non - Hodgkin malignant lymphoma with special reference to desmosome - like junctions. *Acta Pathol. Jpn.*, **30**, 195 - 217 (1980).

13) **Seemayer, T. A., Lagacé, R. & Schürch, W.**: On the pathogenesis of sclerosis and nodularity in nodular sclerosing Hodgkin's disease. *Virchows Arch. A Pathol. Anat. and Histol.*, **385**, 283 - 291 (1980).

14) **Robb - Smith, A. H. T. & Tayer, C. R.**: Lymph node biopsy, p 76 - 95, Miller Heyden, London, 1981.

15) **Dvorak, A. M., Bast, R. C. & Dvorak, H. F.**: Morphologic changes in draining lymph nodes and in lymphocyte cultures after sensitization with complete or incomplete Freund's Adjuvant. Correlation with immunologic events in vivo and in culture. *J. Immunol.*, **107**, 422 - 435 (1971).

16) **Kajikawa, K., Yamaguchi, T., Katsuda, S. & Miwa, A.**: An improved electron stain for elastic fibers using tannic acid. *J. Electron Microsc.*, **24**, 287 - 289 (1975).

17) **Mayahara, H., Hirano, H., Saito, T. & Ogawa, K.**: The new lead citrate method for the ultracytochemical demonstration of activity of non - specific alkaline phosphatase. (Orthophosphoric monoester phosphohydrolase). *Histochemie*, **11**, 88 -

96 (1967).

18) **Wachstein, M. & Meisel, E.**: Histochemistry of hepatic phosphatases at a physiologic pH. *Am. J. Clin. Path.*, **27**, 13 - 23 (1957).

19) **Barka, T. & Anderson, P. J.**: Histochemical methods for acid phosphatase using hexazonium pararosanilin as coupler. *J. Histochem. Cytochem.*, **10**, 741 - 753 (1962).

20) **Burstone, M. S.**: Histochemical comparison of naphthol AS - phosphates for the demonstration of phosphatases. *J. Nat. Cancer Inst.*, **20**, 601 - 615 (1958).

21) **Yam, L. T., Li, C. Y. & Crosby, W. H.**: Cytochemical identification of monocytes and granulocytes. *Am. J. Clin. path.*, **55**, 283 - 290 (1971).

22) **Bairati, A., Amante, L., de Petris, S. & Pernis, B.**: Studies on the ultrastructure of the lymph nodes. I. The reticular network. *Z. Zellforsch.*, **63**, 644 - 672 (1964).

23) **Müller - Hermelink, H. K., Gaudecker, B. V., Drenckhahn, D., Jaworsky, K. & Feldmann, C.**: Fibroblastic and dendritic reticulum cells of lymphoid tissue. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **101**, 149 - 164 (1981).

24) **Heusermann, U., Zurborn, K. H., Schroeder, L. & Stutte, H. J.**: The origin of the dendritic reticulum cell. An experimental enzyme - histochemical and electron microscopic study on the rabbit spleen. *Cell Tiss. Res.*, **209**, 279 - 294 (1980).

25) **Friess, A.**: Interdigitating reticulum cells in the popliteal lymph node of the rat. An ultrastructural and cytochemical study. *Cell Tiss. Res.*, **170**, 43 - 60 (1976).

26) **伊東俊夫**: 肝臓の脂肪摂取細胞の構造と機能. 解剖誌, **53**, 393 - 422 (1978).

27) **Wake, K.**: Perisinusoidal stellate cells (fat - storing cells, interstitial cells, lipocytes), their related structure in and around the liver sinusoids, and vitamin A - storing cells in extrahepatic organs. *Int. Rev. Cytol.*, **66**, 303 - 353 (1980).

28) **Hirosawa, K. & Yamada, E.**: The localization of the vitamin A in the mouse liver as revealed by electron microscope radioautography. *J. Electron Microsc.*, **22**, 337 - 346 (1973).

29) **Yorifuji, H., Hirosawa, K. & Yamada, E.**: Localization of vitamin A - storing cell in mouse uterus. A radioautographic study. *Biol. Cell*, **40**, 195

- 202 (1981).

30) **Hirosawa, K. & Yamada, E.**: Localization of tritiated vitamin A in lymph nodes of the mouse. An autoradiographic study of vitamin A - storing cells. *Am. J. Anat.*, **161**, 299 - 310 (1981).

31) **Hirosawa, K.**: A note on autoradiography. An introduction of vitamin A - storing cells. *Acta Histochem. Cytochem.*, **10**, 253 - 259 (1977).

32) **Kent, G., Gay, S., Inouye, T., Bahu, R., Minick, O. T. & Popper, H.**: Vitamin A - containing lipocytes and formation of the type III collagen in liver injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **73**, 3719 - 3722 (1976).

33) **Popper, H.**: Pathologic aspects of cirrhosis. A review. *Am. J. Pathol.*, **87**, 228 - 264 (1977).

34) 影山圭三: 肺線維化の成り立ちと進展. *日病会誌*, **62**, 3 - 39 (1973).

35) 永井裕・許斐博史: 細胞線維の生化学. *日網会誌*, **21**, 76 - 77 (1981).

36) **Nakanishi, I., Masuda, S., Kitamura, T., Moriizumi, T. & Kajikawa, K.**: Distribution of fibrous long - spacing fibers in normal and pathological lymph nodes. *Acta Pathol. Jpn.*, **31**, 733 - 745 (1981).

37) **Bairati, A., Petruccioli, M. G. & Pernis, B.**: Ultrastruttura e natura del tessuto fibroso ialino postumo al granuloma da adiuvante di Freund. II. Indagini al microscopio elettronico. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, **43**, 1443 - 1444 (1967).

38) **Mollo, F., Monga, G. & Stramignoni, A.**: Banded structures in the connective tissue of lymph nodes in Hodgkin's disease. *J. Microscopie*, **7**, 451 - 454 (1968).

39) **Mollo, F. & Monga, G.**: Banded structures in the connective tissue of lymphomas, lymphadenitis, and thymomas. *Virchows Arch. Abt. B Zellpath.*, **7**, 356 - 366 (1971).

40) 山村第一: ラット皮膚における線維性長周期線維の形成機序—電子顕微鏡的研究. *十全医会誌*, **88**, 38 - 52 (1979).

41) **Kajikawa, K., Nakanishi, I. & Yamamura, T.**: The effect of collagenase on the formation of fibrous long spacing collagen aggregates. *Lab. Invest.*, **43**, 410 - 417 (1980).

Explanation of Figures

Fig. 1. Paracortical zone of a normal lymph node.

Fibroblastic reticulum cells (FRC) have slender cytoplasmic processes which extend between the lymphoid parenchyma and intervening reticular fibers (RF) in the medullary cord. L: lymphocyte. $\times 7,200$.

Fig. 2. Picture shows fine structural changes of the fibroblastic reticulum cell (FRC) induced by vitamin A administration. Note dilatation of rough endoplasmic reticulum and appearance of lipid droplets in the fibroblastic reticulum cell (FRC). The intercellular space is wide and edematous. S: medullary sinus
E: endothelial cell of lymph sinus. $\times 7,200$.

Fig. 3. Fibroblastic reticulum cell (FRC) seen in the medullary cord 5 days after Freund's complete adjuvant injection. The fibroblastic reticulum cell (FRC) contains prominent nucleoli and a stack of rough endoplasmic reticulum, and closely contacts with a macrophage (M).
E: endothelial cell of lymph sinus
S: lymph sinus. $\times 7,500$.

Fig. 4. Fibroblastic reticulum cells (FRC) proliferating around the 1st week's adjuvant granuloma. Well developed rough endoplasmic reticulum with content of flocculent materials and prominent Golgi apparatus are noted. Thin collagen fibers and amorphous intercellular materials are found around these cells.
 $\times 7,500$.

Fig. 5. Fibroblasts (Fb) proliferating in the fibrous capsule of the lymph node involved by the 1st week's adjuvant granuloma. The fibroblasts (Fb) are aligned in parallel each other and provide well developed rough endoplasmic reticulum.
 $\times 7,500$.

Fig. 6. A fibroblastic reticulum cell (FRC) found in the outer zone of the 2nd week's adjuvant granuloma with supplementary administration of vitamin A for 7 days. The fibroblastic reticulum cell (FRC) has well developed rough endoplasmic reticulum and several lipid droplets, and contacts with a lymphocyte (L).
M: macrophage. $\times 7,500$.

Fig. 7. Light micrograph shows focal fibrosis of the lymph node involved by the 6th week's adjuvant granuloma. The fibrotic focus is composed of collagen fibers extending from the

fibrous capsule and reticular fibers projecting from the medullary cord.

Silver impregnation. $\times 40$.

Fig. 8. Light micrograph shows the accumulation of hyalinous material (arrow) around the 12th week's adjuvant granuloma.

Silver impregnation. $\times 400$.

Fig. 9. Electron Micrograph showing the fibrous tissue seen in the 12th week's adjuvant granuloma of the lymph node. The fibrous tissue is connected with the outer fibrous capsule. There are many bundles of thick collagen fibers (Co)

between active fibroblasts (Fb). $\times 9,000$.

Fig. 10. Fibroblastic reticulum cell (FRC) seen in the 6th week's adjuvant granuloma. The cell contains dilated rough endoplasmic reticulum and contacts with epithelioid cells (E). There are focal areas of thin collagen fibers interposed between these cells. Tannic acid stain, $\times 6,000$.

Fig. 11. Hyalinous intercellular space consisting of thin collagen fibers admixed with fibrous long spacing fibers (FLS) in the 10th week's adjuvant granuloma.

Ruthenium red stain. $\times 12,000$.

Ultrastructure and Reaction of the Fibroblastic Reticulum Cell of the Guinea-pig Lymph Node: A Histological, Electron-Microscopical, and Histochemical Study Shinji Masuda, Department of Pathology (I) (Director: Prof. K. Kajikawa), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 — J. Jusen Med. Soc., **91**, 177—192 (1982)

Key words: Fibroblastic reticulum cell, Vitamin A-storing cell, Fibrosis of lymph node, Fibrous long spacing fiber.

Abstract

The ultrastructure and distribution of fibroblastic reticulum cells in lymph nodes of guinea-pigs in the normal state and the granuloma induced by Freund's complete adjuvant injection have been examined by light and electron microscopy and enzyme histochemistry. In the normal lymph node, the fibroblastic reticulum cells are usually found along the outer surface of the lymphoid parenchyma in the medullary cord and they have elongated cytoplasmic processes investing the lymph node stroma which is histologically defined as reticular fibers. In the adjuvant granuloma, proliferating fibroblastic reticulum cells which seem to mimic active fibroblasts in their fine structure tend to contact with the adjacent mesenchymal cells and to store vitamin A, and they produce reticular fibers in their territories. With developement of fibrosis in the adjuvant granuloma, fibroblasts originating in the trabecular and capsular fibrous tissue involved by the granuloma proliferate and produce collagen fibers in situ. Concomitantly, fibroblastic reticulum cells increase and move into the granuloma to form reticular fibers. Therefore, it is strongly suggested that the fibrosis in the granuloma is to be attributed to collagen produced by fibroblasts invading from the fibrous tissue and to reticular fibers formed by fibroblastic reticulum cells in the medullary cord. Differentiation between the fibroblastic reticulum cells and the other kinds of stroma cells in the lymph node was discussed.

